

**Évolution de la teneur en lipides
de *Leptosphaeria typhae* (Auers.) Karsten
en fonction de sa croissance et de sa reproduction sexuée :
influence sur le métabolisme lipidique d'agents stimulant
ou inhibant la reproduction sexuée**

par Gérard VIDAL*

RÉSUMÉ. L'apparition des périthèces s'accompagne d'une réduction de la teneur mycélienne en lipides et d'une accélération de leur renouvellement («turn-over»), cette évolution se faisant surtout aux dépens des lipides polaires. Le degré d'insaturation moyen s'élève, la composition du mélange lipidique est modifiée, avec en particulier une augmentation du rapport phosphatidyl-cholines/phosphatidyl-éthanolamines. On fait agir sur le champignon deux agents inhibiteurs de la reproduction sexuée : l'éclairement constant et l'adjonction d'acétate de sodium au milieu de culture, ainsi qu'un agent stimulant l'ascosporulation : l'aération du mycélium. L'inhibition de la sexualisation réduit les modifications du métabolisme lipidique, alors que sa stimulation les rend plus nettes. Il y a donc une relation évidente entre la réorientation du métabolisme des lipides et la formation des appareils sexués.

SUMMARY. — When perithecia appear, the mycelial lipid content falls and lipid turnover is accelerated. Polar lipids especially disappear. Fat's degree of insaturation increases; the lipid pool composition is modified; PC/PE ratio increases. The author studied the effects of two sexualisation-inhibiting agents : continual lighting and sodium acetate, and a stimulating agent : mycelium's aeration. Sexualisation's inhibition reduces the modifications of lipid metabolism. Stimulation increases them. There is therefore an evident relation between the lipid metabolism changes and perithecia formation.

MOTS CLÉS : *Leptosphaeria typhae*, reproduction sexuée, lipides, métabolisme.

INTRODUCTION

Le *Leptosphaeria typhae* (Auers.) Karsten (Ascomycètes, Pléosporales, Pléosporacées) présente la particularité de produire de très abondants fruits à asques lorsqu'il est cultivé sur un milieu convenable sous une photopériode

* Laboratoire de Cryptogamie, Bâtiment SN2, Université de Lille 1, F-59655 Villeneuve d'Ascq Cedex.

de 12 heures; dans les mêmes conditions, mais végétant à l'obscurité, il demeure totalement stérile (LACOSTE, 1965; VIALA, 1972). En aucun cas il ne différencie d'organe de multiplication asexuée, ce qui facilite l'interprétation des analyses biochimiques lorsqu'on compare les mycéliums fertiles aux stériles.

Lors de travaux précédents (VIDAL, 1979, 1985) nous avons montré que la reproduction sexuée du champignon s'accompagne de profondes modifications de son métabolisme lipidique : abaissement de la teneur mycélienne en lipides malgré un fort accroissement de l'activité de synthèse, cette disparition affectant surtout les fractions polaires; augmentation du degré d'insaturation de tous les lipides; changement de la composition globale du «pool» lipidique, avec par exemple élévation du rapport phosphatidyl-cholines/phosphatidyl-éthanolamines. Mais ces résultats ont été obtenus en comparant les mycéliums ayant végété dans deux conditions de culture seulement : sous photopériode et à l'obscurité constante. Il n'est donc nullement prouvé que les variations observées aient une relation directe avec la fertilité du *Leptosphaeria typhae* : elles peuvent être simplement liées au fait qu'il se développe dans un environnement différent. Afin de mettre en évidence une éventuelle connexion entre le métabolisme lipidique et la stérilité ou la production d'ascocarpes, nous étudions dans cette note l'effet qu'exercent sur la composition en lipides du champignon trois agents stérilisants ou fertilisants dont nous avons déjà constaté l'efficacité (VIALA & VIDAL, 1972; VIDAL & VIALA, 1979) : l'aération du mycélium, stimulant la reproduction sexuée; l'éclaircissement constant et l'apport d'acétate de sodium dans le milieu de culture, agent stérilisants.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Nous avons employé la même souche fongique monoascospore isolée par LACOSTE (1965) que lors de nos précédents travaux (VIALA & VIDAL, 1972; VIDAL & VIALA, 1979; VIDAL, 1979, 1985). Les cultures étaient menées à 18°C. en fioles de Roux d'un litre contenant 100 ml de décoction d'avoine à 20 g/l. Pour des raisons pratiques - encombrement des fioles, volume des enceintes de culture -- nous avons dû scinder notre travail en deux séries d'expériences :

- 1) Influence de la lumière constante, comparée à la photopériode 12/12 et à l'obscurité;
- 2) Influence de l'acétate et de l'aération, sous photopériode 12/12 et sous obscurité constante. Nous avons stérilisé complètement le *Leptosphaeria typhae* en le faisant développer sur une décoction d'avoine contenant 1 % d'acétate de sodium. Inversement, nous avons stimulé sa fructification en introduisant dans un autre lot de boîtes de Roux des baguettes de verre de 6 mm de diamètre qui facilitaient le contact du mycélium avec l'air (VIALA, 1972; VIALA & VIDAL, 1972). Nous avons comparé les lipides du champignon ainsi cultivé à ceux du même microorganisme ayant végété dans des conditions «normales» sur décoction d'avoine, sous photopériode et à l'obscurité constante.

Pour chaque type de culture, on notait la date d'apparition des périthèces et le nombre relatif de ceux-ci, l'indice 100 étant réservé aux mycéliums-témoins cultivés sur décoction d'avoine sous photopériode.

Étude des lipides mycéliens.

Les mycéliums, recueillis par centrifugation à 0°C puis lavés à l'eau distillée à 5°C environ étaient fixés par l'azote liquide puis lyophilisés. Avant extraction, les lyophilisats subissaient un traitement à l'eau bouillante afin de détruire les enzymes susceptibles de dégrader les lipides au cours des opérations suivantes.

Pour l'extraction, le fractionnement, l'analyse et le dosage des lipides, nous avons employé les mêmes techniques que lors de nos travaux précédents (VIDAL, 1979, 1985) :

- extraction par la méthode de FOLCH & al. (1957)
- fractionnement en lipides neutres et polaires sur colonne d'acide silicique (ROUSER & al., 1967; DITTMER & WELLS, 1969)
- analyse des acides gras par chromatographie en phase gazeuse sur colonne de DEGS
- fractionnement des lipides neutres sur colonne de Florisil (*in* KATES, 1972)
- dosage des diverses classes de lipides neutres par la méthode d'AMENTA (1964)
- fractionnement des phospholipides par chromatographie sur couche mince de silicagel G, par le mélange chloroforme-méthanol-eau-acide acétique (25-15-2-4) (SKIPSKI & al., 1964; RENKONEN & VARÖ, 1967) puis dosage du phosphore de chaque fraction par la méthode de CHEN & al. (1956).

RÉSULTATS

Influence de l'éclairement constant.

Nous avons résumé les résultats obtenus dans les tableaux 1 à 6. Les périthèces apparaissent normalement au 7ème jour de culture dans les boîtes de

Tableau 1 : Influence de la lumière sur la croissance et la teneur en lipides du *Leptosphaeria typhae* (moyenne de 4 mesures).

Table 1 : Influence of lighting on growth and lipid content of the fungus (average of 4 measurements).

	7ème JOUR			9ème JOUR			11ème JOUR		
	L	12	O	L	12	■	L	12	O
Poids de matière sèche par fiole/mg	64,0	64,8	68,2	97	96	94	96	90	■
Lipides mg p. 100mg	7,0	6,8	6,4	6,5	6,0	7,2	5,6	5,4	6,7
Lipides mg/fiole	4,45	4,4	4,4	6,3	5,8	6,8	5,4	4,9	6,6
Lipides neutres ■	53,5	52,2	54,6	52,5	55,8	52,0	55,8	57,7	51,5

L : éclairage constant, 12 : photopériode de 12/12, O : obscurité constante
L : continual lighting, 12 : photoperiod 12/12, O : continual dark.

Roux soumise à photopériode, alors qu'il ne s'en forme qu'une très faible quantité, très tardivement, sous éclairage constant (Tab. 1). La teneur en lipides des cultures végétant à l'obscurité tend à s'élever après le 7ème jour; les mycéliums éclairés, au contraire, perdent leurs lipides et cette perte est plus nette sous photopériode. C'est surtout aux dépens des lipides polaires que s'effectue cette évolution, ainsi que nous l'avons déjà constaté (VIDAL, 1985).

Tableau 2 : influence de la lumière sur la composition en acides gras des lipides totaux. Pourcentage relatif de chacun des acides gras détectés (moyenne de 4 mesures).

Table 2 : Influence of lighting on fatty acids content of total lipids. Relative percent of each detected fatty acid (average of 4 measurements).

ACIDE	7ème JOUR			9ème JOUR			11ème JOUR		
	L	12	O	L	12	O	L	12	O
C ₁₂	t	t	■	t	t	t	t	t	t
C ₁₂ : 1	t	t	t	t	t	t	■	t	t
C ₁₄	■	t	t	t	t	t	t	t	t
C ₁₄ : 1	t	t	t	t	t	t	t	t	■
C ₁₆	22,4	18,6	21,1	22,0	19,0	22,7	19,8	20,6	21,0
C ₁₆ : 1	2,1	1,3	3,0	2,1	2,8	3,7	2,9	3,9	3,2
C ₁₈	6,7	8,9	9,2	5,4	6,7	8,2	5,7	4,6	7,3
C ₁₈ : 1	28,3	28,9	27,2	27,4	25,0	26,3	27,8	23,1	27,8
C ₁₈ : 2	24,4	26,0	25,0	27,7	30,8	24,4	28,6	31,2	25,4
C ₁₈ : 3	16,1	14,3	15,5	15,4	15,7	15,3	15,2	16,6	15,3
D.I.	1,28	1,25	1,27	1,31	1,36	1,25	1,34	1,39	1,28

L : lumière constante, 12 : photopériode, O : obscurité constante, D.I. : degré d'insaturation, t : traces.

L : continual lightning, 12 : photoperiod, O : continual dark, D.I. : degree of insaturation, t : traces.

La composition en acides gras de l'ensemble des lipides est elle aussi modifiée (Tab. 2). Le degré d'insaturation [D.I. = (pourcentage d'acides à une double liaison + pourcentage d'acides à deux doubles liaisons X 2 + pourcentage d'acides à trois doubles liaisons X 3) / 100] de ces corps dans les cultures sous photopériode s'élève notablement entre les 7ème et 9ème jours, passant de 1,25 à 1,36, alors que, dans les mycéliums maintenus à l'obscurité, il ne varie prati-

quement pas tout au long du développement. Sous éclairage constant, ce chiffre s'élève très légèrement. Ces changements sont surtout dûs aux variations de la proportion d'acide linoléique ($C_{18:2}$).

Les lipides neutres (Tab. 3) montrent aussi des différences entre les 3 types de cultures : sous photopériode, les proportions d'acides gras libres et de diglycérides s'élèvent entre les 7ème et 11ème jours, alors que les triglycérides tendent à perdre de leur importance par rapport aux autres composants des lipides neutres. L'évolution générale apparaît inversée dans les autres mycéliums surtout en ce qui concerne les acides gras libres. Malgré une proportion élevée d'acide linoléique ($C_{18:2}$), les acides gras totaux des lipides neutres ont un degré d'insaturation plus faible que ceux des lipides totaux (Tab. 4). A partir du 9ème jour, il est toujours plus élevé sous éclairage qu'à l'obscurité : il semble que l'éclairage continu favorise la désaturation de ce type de lipides.

Tableau 3 : Influence de la lumière sur la composition des lipides neutres. Pourcentage relatif de chacune des fractions déterminées (moyenne de 3 mesures).

Table 3 : Influence of lighting on neutral lipids. Relative percent of each determined fraction (average of 3 measurements).

SOUS-FRACTION	7ème JOUR			9ème JOUR			11ème JOUR		
	L	12	O	L	12	■	L	12	O
Hydrocarbures	5,3	8,5	4,6	4,5	5,3	4,2	4,5	5,5	1,8
Esters de stérols	12,4	12,2	13,4	9,2	8,7	12,8	11,1	6,7	11,5
Triglycérides	40,2	33,0	33,9	42,0	37,0	38,4	38,6	29,6	43,0
Stérols	15,1	14,8	16,8	14,1	12,4	16,9	14,2	13,1	14,2
Diglycérides	8,4	10,6	9,1	8,3	11,4	7,4	12,0	12,3	3,9
Monoglycérides	4,0	6,1	7,3	8,7	8,0	8,2	10,6	9,5	8,5
Acides gras libres	14,6	14,8	14,9	13,2	17,2	12,1	9,0	23,3	14,2

L : lumière constante, 12 : photopériode, O : obscurité constante.

L : continual lighting, 12 : photoperiod, O : continual dark.

On peut observer dans le Tableau 5 que, dans les phospholipides, le rapport PC/PE augmente dans les cultures fertiles au moment de l'apparition des périthèces; sous lumière constante, il semble y avoir une légère stimulation de la synthèse de PC, mais en tout cas très inférieure à celle qui est visible sous photopériode. Les phospholipides sont toujours très riches en acide linoléique ($C_{18:2}$) et il en résulte que leur degré d'insaturation est très élevé, surtout dans les mycéliums fertiles après le 7ème jour; on ne note pratiquement pas de différence entre les cultures sous éclairage constant ou à l'obscurité (Tab. 6).

Tableau 4 : Variation de la composition en acides gras des lipides neutres sous l'action de la lumière. Pourcentage relatif de chacun des acides gras détectés (moyenne de 3 mesures).

Table 4 : Variation of fatty acids composition of neutral lipids under lighting. Relative percent of each detected fatty acid (average of 3 measurements).

ACIDE	7ème JOUR			9ème JOUR			11ème JOUR		
	L	12	O	L	12	O	L	12	O
C ₁₂	t	t	t	t	t	t	t	t	t
C ₁₂ : 1	■	t	t	t	t	t	■	t	t
C ₁₄	t	t	t	t	t	t	t	t	t
C ₁₄ : 1	t	t	t	■	t	t	t	t	t
C ₁₆	25,2	25,5	25,0	23,4	24,9	28,9	21,7	23,6	27,8
C ₁₆ : 1	1,8	1,6	2,1	1,6	3,2	4,5	2,2	4,3	3,1
C ₁₈	10,0	9,3	10,1	8,6	8,8	10,2	8,7	9,5	8,3
C ₁₈ : 1	27,9	28,8	28,1	27,3	26,0	26,1	27,1	25,2	28,3
C ₁₈ : 2	18,8	19,0	18,5	23,8	21,0	19,0	24,3	21,1	20,4
C ₁₈ : 3	16,3	15,8	16,2	15,3	16,1	11,3	16,0	16,3	18,1
D. I.	1,16	1,16	1,16	1,22	1,20	1,03	1,26	1,21	1,10

L : lumière constante, 12 : photopériode, O : obscurité constante, D.I. degré d'insaturation, t : traces.

L : continual lighting, 12 : photoperiod, O : continual dark, D.I. : degree of insaturation, ■ : traces.

Tableau 5 : Influence de la lumière sur la composition des phospholipides. Pourcentage relatif de chacun des groupes de phospholipides détectés (moyenne de 3 mesures).

Table 5 : Influence of lighting on phospholipids. Relative percent of each detected phospholipid pool (average of 3 measurements).

SOUS-FRACTION	7ème JOUR			9ème JOUR			11ème JOUR		
	L	12	O	L	12	O	L	12	O
C.L.	1,3	1,0	0,8	0,9	1,3	1,6	1,7	t	0,9
P.E.	33,9	32,2	34,1	29,7	24,3	30,0	30,1	27,6	32,3
PS + PI	7,5	8,1	7,7	7,4	6,7	8,3	8,0	7,9	9,1
P.C.	52,6	51,3	53,4	49,0	59,4	47,9	48,8	59,8	49,8
L.P.E.	2,6	3,3	1,9	6,7	4,0	5,1	5,5	2,5	3,9
L.P.C.	3,4	4,1	2,1	6,3	4,3	7,1	5,9	2,2	4,0
Rapport PC/PE	1,55	1,59	1,57	1,65	2,44	1,60	1,62	2,17	1,54

C.L. : cardiolipides, P.E. : phosphatidyl-éthanamines, P.S. : phosphatidyl-sérines, P.I. : phosphatidyl-inositol, P.C. : phosphatidyl-cholines, L.P.E. : lyso-phosphatidyl-éthanamines, L.P.C. : lyso-phosphatidyl-cholines, L : lumière constante, 12 : photopériode, O : obscurité constante, t : traces

L : continual lighting, 12 : photoperiod, O : continual dark, t : traces.

Tableau 6 : Influence de la lumière sur la composition en acides gras des phospholipides. Pourcentage relatif de chacun des acides gras détectés (moyenne de 4 mesures).

Table 6 : Influence of lighting on the fatty acids content of phospholipids. Relative percent of each detected fatty acid (average of 4 measurements).

ACIDE	7ème JOUR			9ème JOUR			11ème JOUR		
	L	12	O	L	12	■	L	12	O
C ₁₂	t	t	t	■	t	t	t	t	t
C ₁₂ : 1	t	t	t	t	t	t	t	t	t
C ₁₄	t	t	t	■	■	t	t	t	t
C ₁₄ : 1	t	t	t	t	t	t	t	t	t
C ₁₆	19,6	19,0	17,1	19,5	13,2	16,1	18,7	14,7	15,8
C ₁₆ : 1	2,2	1,0	3,2	2,1	2,2	3,1	3,3	2,0	3,4
C ₁₈	6,5	7,0	8,0	3,2	5,8	7,3	4,0	5,3	6,8
C ₁₈ : 1	28,8	29,1	28,0	27,5	23,1	28,2	26,4	21,8	27,4
C ₁₈ : 2	29,9	29,6	31,0	31,6	41,9	28,3	31,0	42,1	29,1
C ₁₈ : 3	14,0	14,3	12,7	16,1	13,8	17,0	16,6	14,1	17,5
D.I.	1,31	1,32	1,31	1,41	1,51	1,39	1,42	1,50	1,42

L : lumière constante, 12 : photopériode, O : obscurité constante, t : traces.

L : continual lighting, 12 : photoperiod, O : continual dark, t : traces.

Influence de l'acétate et de l'aération

Les résultats sont résumés dans les tableaux 7 à 12.

On constate (Tab. 7; VIALA & VIDAL, 1972) que dans un premier temps, l'acétate ralentit la croissance du champignon puis l'accélère; il inhibe complètement la production de périthèces, au moins jusqu'au 11ème jour de culture; il induit enfin une élévation de la teneur mycélienne en lipides, ce qui était tout à fait prévisible, étant donné le rôle qu'il joue dans la synthèse de tous ces corps (MAZLIAK, 1968; WEETE, 1980). L'aération réduit légèrement le rendement en masse sèche; par contre, les premiers périthèces apparaissent sur le mycélium dès le 6ème jour de culture, soit 24 heures plus tôt que dans les fioles-témoins, et leur nombre est nettement plus élevé. Nous remarquons que, cultivé sur baguettes, le champignon est pauvre en lipides dès le 7ème jour sous éclairage, alors que les mycéliums-témoins en contiennent encore 6,4 %. Chez ces derniers, la teneur lipidique s'abaisse au 9ème jour et devient inférieure à celle des cultures maintenues à l'obscurité, phénomène déjà décrit (VIDAL, 1979).

La présence d'acétate dans le milieu induit une élévation de la proportion de lipides neutres, celle-ci pouvant atteindre 90 % du total à l'obscurité. Sous photo-

Tableau 7 : Influence de l'aération et de l'acétate sur la croissance et la teneur en lipides du *Leptosphaeria typhar* (poids de matière sèche en mg/flûte de culture) Pourcentage relatif de lipides neutres séparés sur acide silicique. Chaque chiffre est la moyenne de 5 mesures.

Table 7 : Influence of aeration and acetate on growth and lipid content of the fungus (dry matter : mg/flask). Relative percent of neutral lipids (average of 5 measurements).

	7ème JOUR					9ème JOUR					11ème JOUR							
	LB	L	LA	OB	O	LB	L	LA	OB	O	LB	L	LA	OB	O			
Poids de matière sèche (mg/flûte)	68,6	72,8	54,2	70,7	69,8	63,2	74,1	87,5	89,5	75,4	89,8	94,3	81,0	88,3	107,5	81,4	90,5	106,5
P.100 ■ LIPIDES mg/flûte	5,6	6,4	8,2	5,3	6,2	7,9	4,9	5,4	14,0	5,5	6,3	10,0	4,7	4,9	13,1	6,1	6,7	18,3
Neutres %	54,5	51,5	64,3	52,5	62,0	86,5	57,8	52,4	68,0	48,6	45,1	90,1	63,3	50,0	75,0	65,9	51,8	90,0

LB : lumière avec baguettes, L : lumière, LA : lumière avec acétate, OB : obscurité avec baguettes, O : obscurité, OA : obscurité avec acétate.

LB : light + sticks, L : light, LA : light + acetate, OB : dark + sticks, O : dark, OA : dark + acetate.

Tableau 8 : Influence de l'aération et de l'acétate sur la composition en acides gras des lipides totaux. Pourcentage relatif de chacun des acides gras détectés (moyenne de 3 mesures).

Table 8 : Influence of aeration and acetate on the fatty acid content of lipids. Relative percent of each detected fatty acid (average of 3 measurements).

LONGUEUR DE CHAÎNE	7ème JOUR						9ème JOUR						11ème JOUR					
	LB	L	LA	OB	O	OA	LB	L	LA	OB	O	OA	LB	L	LA	OB	O	OA
C ₁₂	1,7	0,7	t	t	1,0	t	0,7	t	1,0	1,0	1,0	1,0	t	t	1,0	1,5	t	t
C ₁₂ : 1	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t
C ₁₄	1,9	0,6	1,0	1,2	1,9	t	0,7	t	1,0	1,0	1,0	1,3	t	1,2	t	0,5	t	t
C ₁₄ : 1	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	■	t	t	t	t
C ₁₆	15,5	12,8	18,6	16,8	15,6	16,7	12,7	12,0	21,1	14,8	15,6	22,2	13,6	12,9	24,8	14,2	14,3	27,3
C ₁₆ : 1	2,5	3,5	2,6	2,6	3,2	2,5	2,5	3,5	2,4	2,5	3,1	3,1	3,4	4,2	2,5	3,9	3,5	3,5
C ₁₈	6,7	12,2	8,3	8,3	8,1	7,9	6,7	8,9	11,8	9,9	10,2	10,7	5,8	6,3	10,2	6,5	8,7	11,6
C ₁₈ : 1	21,6	27,0	28,0	22,7	23,5	32,0	23,5	29,1	33,9	23,0	22,5	31,5	23,7	26,6	28,2	26,7	27,1	34,8
C ₁₈ : 2	29,7	28,0	26,4	29,5	29,1	25,5	30,9	30,1	19,0	30,5	31,1	20,6	32,3	34,9	21,7	33,8	34,4	17,3
C ₁₈ : 3	20,4	15,2	15,1	18,9	17,6	15,4	22,3	16,4	8,8	17,3	15,5	9,6	21,2	13,9	9,9	12,9	12,0	5,5
D.I.	1,45	1,32	1,29	1,41	1,38	1,32	1,55	1,42	1,01	1,38	1,34	1,05	1,55	1,42	1,04	1,37	1,35	0,89

LB : lumière avec baguettes, L : lumière, LA : lumière avec acétate, OB : obscurité avec baguettes, O : obscurité, OA : obscurité avec acétate, D.I. degré moyen d'insaturation, t : traces.

LB : light + sticks, L : light, LA : light + acetate, OB : dark + sticks, O : dark, OA : dark + acetate, D.I. : degree of insaturation, t : traces.

Tableau 9 : Influence de l'aération et de l'acétate sur la composition des lipides neurones. Pourcentage relatif de chaque groupe de lipides détecté (moyenne de 3 mesures).

Table 9 : Influence of aeration and acetate on neural lipids content. Relative percent of each detected lipid pool (average of 3 measurements).

SOUS-FRACTION	7 ^{ème} JOUR			9 ^{ème} JOUR			11 ^{ème} JOUR		
	LB	LA	OB	LB	LA	OB	LB	LA	OB
Hydrocarbures	3,9	3,0	3,5	4,0	2,9	3,5	6,1	7,9	5,0
Esters de stérols	6,4	12,1	9,2	6,1	2,9	8,5	6,3	6,8	13,7
Triglycérides	46,3	57,2	40,8	47,3	46,9	65,7	34,4	31,1	57,8
Stérols	11,9	13,9	6,4	14,2	15,3	3,4	14,1	14,8	6,5
Diglycérides	6,8	1,5	4,5	6,8	5,9	7,1	8,3	8,8	3,6
Monoglycérides	3,6	3,6	2,0	6,0	2,1	5,9	6,5	8,1	2,4
Acides gras libres	21,1	15,3	14,1	15,6	18,7	13,9	22,7	21,1	11,8

LB : lumière avec baguettes, L : lumière, LA : lumière avec acétate, OB : obscurité avec baguettes, O : obscurité, OA : obscurité avec acétate, t : traces.

LB : light + sticks, L : light, LA : light + acetate, OB : dark + sticks, O : dark, OA : dark + acetate, t : traces.

Tableau 10 : Influence de l'aération et de l'acétate sur la composition en acides gras des lipides neutres. Pourcentage relatif de chacun des acides détectés (moyenne de 3 mesures).

Table 10 : Influence of aeration and acetate on the fatty acids content of neutral lipids. Relative percent of each detected acid (average of 3 measurements).

ACIDE	7ème JOUR						9ème JOUR						11ème JOUR					
	LB	L	LA	OB	O	OA	LB	L	LA	OB	■	OA	LB	L	LA	OB	O	OA
C ₁₂	1,5	1,5	t	t	1,2	1,2	t	t	1,0	1,5	t	t	t	t	1,0	1,0	t	t
C ₁₂ : 1	t	t	t	t	■	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t
C ₁₄	2,3	1,2	1,4	t	1,4	1,1	t	t	1,0	1,5	t	t	t	1,0	1,0	1,0	t	t
C ₁₄ : 1	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t
C ₁₆	15,8	13,8	17,2	17,6	18,5	22,3	13,2	14,9	22,8	19,5	16,2	23,4	14,6	19,2	24,1	14,5	15,1	28,2
C ₁₆ : 1	2,9	3,2	5,2	4,6	3,3	4,5	9,8	4,1	3,3	2,7	2,5	3,4	2,0	2,2	1,0	4,3	4,7	3,7
C ₁₈	7,0	13,3	7,4	6,9	9,3	11,5	5,6	10,9	13,1	10,3	12,2	10,9	7,3	8,4	11,4	7,2	9,6	12,6
C ₁₈ : 1	26,5	28,1	37,1	31,8	26,4	31,3	26,2	29,5	34,4	24,1	29,9	34,2	27,9	28,9	32,2	28,4	28,9	32,3
C ₁₈ : 2	22,4	23,0	23,1	20,0	21,2	17,2	22,3	22,9	16,3	21,9	23,1	17,8	24,7	24,3	20,1	29,7	28,6	17,4
C ₁₈ : 3	21,6	15,9	8,6	19,1	18,7	15,9	22,9	17,7	8,1	18,5	16,1	10,3	23,5	16,1	9,2	13,9	13,1	5,8
+ de 18C	-	-	-	-	-	-	-	-	t	-	-	t	-	-	■	-	-	t
D.I.	1,39	1,25	1,14	1,34	1,28	1,18	1,49	1,33	0,95	1,26	1,27	1,04	1,50	1,28	1,01	1,34	1,30	0,88

LB : lumière avec baguettes, L : lumière, LA : lumière avec acétate, OB : obscurité avec baguettes, O : obscurité, OA : obscurité avec acétate, D.I. : degré moyen d'insaturation, t : traces.

LB : light + sticks, L : light, LA : light + acetate, OB : dark + sticks, O : dark, OA : dark + acetate, D.I. degree of insaturation, t : traces.

Tableau 11 : Influence de l'aération et de l'acétate sur la composition des phospholipides. Pourcentage relatif de chacun des groupes de lipides détectés (moyenne de 3 mesures).
 Table 11 : Influence of aeration and acetate on phospholipid content. Relative percent of each detected lipid pool (average of 3 measurements).

	7ème JOUR				9ème JOUR				11ème JOUR				
	LB	L	LA	OB	LB	L	LA	OB	LB	L	LA	OB	OA
C.L.	0,5	1,0	0,9	0,9	1,0	1,3	1,4	0,9	1,5	1,3	1,3	1,3	1,6
P.R.	31,9	31,7	33,3	31,4	34,6	33,9	29,9	33,7	30,6	35,2	34,1	31,7	30,1
PS + PI	7,7	7,2	7,5	5,6	8,3	7,3	8,6	7,4	8,6	8,2	7,9	8,7	7,5
P.C.	55,3	53,1	48,6	53,1	49,8	49,5	55,1	54,8	47,3	51,2	49,9	45,6	57,2
L.P.E.	3,4	3,9	4,3	4,5	6,4	4,2	1,0	3,4	4,3	3,4	3,5	5,4	1,0
L.P.C.	1,2	3,1	5,4	4,5	10,9	4,1	3,4	3,2	4,7	4,9	3,5	4,7	2,6
Rapport	1,73	1,68	1,46	1,69	1,44	1,46	1,73	1,83	1,40	1,67	1,42	1,34	1,80
pc/pe													1,75
													1,24
													1,79
													3,6
													5,4
													4,1
													3,6
													5,3

CL : cardiolipides, PE : phosphatidyl-éthanolamines, PS : phosphatidyl-sérines, PI : phosphatidyl-inositol, PC : phosphatidyl-LB : lumière avec baguettes, L : lumière, LA : lumière avec acétate, OB : obscurité avec baguettes, O : obscurité, OA : obscurité avec acétate, t : traces.
 LB : light + sticks, L : light, LA : light + acetate, OB : dark + sticks, O : dark, OA : dark + acetate, t : traces.

période, ce phénomène est un peu moins net. Le développement sur baguettes de verre entraîne aussi chez le champignon une légère augmentation du pourcentage de lipides neutres. Sur milieu-témoin, les résultats reproduisent ceux qui ont été décrits précédemment (VIDAL, 1979).

Dans les lipides totaux, l'acétate provoque un abaissement du degré d'insaturation concomitant à une augmentation de la proportion en acide palmitique (C_{16}). résultat plus net après le 7ème jour de culture, lorsque le champignon s'adapte à cette source de carbone. L'aération, au contraire, élève le degré d'insaturation avec une augmentation des teneurs en acides linoléique et linoléique (Tab. 8). Ces observations sont valables aussi bien à l'obscurité que sous photopériode. Dans les mycéliums-témoins, l'évolution des acides gras est conforme à celle que nous avons déjà constatée (VIDAL, 1979, 1985) : la formation des périthèces, après le 7ème jour, s'accompagne dans les mycéliums fertiles (éclairés) d'une élévation du degré d'insaturation des acides gras totaux.

Dans le Tableau 9, on observe que la culture sur acétate augmente la proportion de triglycérides dans les lipides neutres du champignon, alors que l'aération ne semble pas exercer un effet très net sur ces chiffres. Ces derniers s'abaissent aux 9ème et 11ème jours sous l'effet de l'éclairage dans tous les types de mycéliums. La lumière et l'aération provoquent une augmentation du pourcentage d'acides gras libres, alors que l'acétate réduit cette proportion. Les acides gras des lipides neutres (Tab. 10) ont en général un degré d'insaturation plus faible que celui des lipides totaux, mais évoluant parallèlement à ce dernier. On constate dans les mycéliums cultivés sur acétate la présence de traces d'acides à plus longue chaîne : C_{20} , C_{22} , C_{24} .

Les phospholipides (Tab. 11) contiennent les mêmes corps qu'elles que soient les conditions de culture, mais leur répartition quantitative est différente suivant les cas. En particulier, la proportion de PC et le rapport PC/PE sont plus élevés dans les mycéliums éclairés; l'aération augmente ces chiffres, l'acétate les diminue. La répartition des acides gras (Tab. 12) montre une prédominance de l'acide linoléique entraînant un degré d'insaturation élevé, mais évoluant parallèlement à celui des lipides totaux.

DISCUSSION

De tous les paramètres qui ont varié au cours de cette série d'expériences, celui qui exerce les contraintes les plus fortes sur le métabolisme lipidique du champignon est l'acétate : il provoque une forte augmentation de la teneur en lipides, se traduisant surtout par une accumulation de lipides neutres et plus particulièrement de triglycérides, accompagnée d'une baisse du degré d'insaturation des acides gras. L'ensemble de ces faits est l'indice d'une stimulation anormale de la synthèse lipidique, aboutissant à un « engorgement lipidique » du mycélium (MORQUER, 1931) et à la suppression quasi-totale de la fertilité sexuelle du champignon.

Tableau 12 : Influence de l'aération et de l'acétate sur la composition en acides gras des phospholipides. Pourcentage relatif de chacun des acides gras détectés (moyenne de 3 mesures).

Table 12 : Influence of aeration and acetate on the fatty acids content of phospholipids. Relative percent of each detected fatty acid (average of 3 measurements).

ACIDE	7ème JOUR			9ème JOUR			11ème JOUR		
	LB	LA	OB	LB	LA	OB	LB	LA	OB
C ₁₂	0,5	t	t	1,0	t	t	1,0	t	1,5
C ₁₂ : II	t	t	t	t	t	t	t	t	t
C ₁₄	0,5	t	1,0	0,5	t	0,6	1,1	1,0	t
C ₁₄ : I	t	t	t	t	t	t	t	t	t
C ₁₆	17,4	17,1	21,2	14,9	14,4	16,0	10,6	11,2	20,2
C ₁₆ : I	1,1	4,5	1,0	2,4	3,2	1,0	1,9	2,5	2,0
C ₁₆ : I	5,4	11,5	9,2	9,1	7,4	6,4	5,0	7,9	10,0
C ₁₈	20,5	20,0	21,9	21,0	20,8	32,3	21,6	28,0	33,6
C ₁₈ : I	35,3	31,0	28,5	33,2	35,1	29,3	41,9	35,3	27,4
C ₁₈ : 2	19,3	15,9	17,2	17,4	15,8	15,0	17,5	15,1	6,8
C ₁₈ : 3	1,50	1,34	1,31	1,42	1,42	1,37	1,60	1,46	1,11
D.I.	1,50	1,34	1,31	1,42	1,42	1,37	1,60	1,46	1,11

LB : lumière avec baguettes, L : lumière, LA : lumière avec acétate, OB : obscurité avec baguettes, O : obscurité, OA : obscureté avec acétate, D.I. : degré moyen d'insaturation, II : traces.
 LB : light + sticks, L : light, LA : light + acetate, OB : dark + sticks, O : dark, OA : dark + acetate, D.I. : degree of insaturation, II : traces.

La comparaison des deux séries d'expériences permet de dégager quelques constatations. Dans tous les cas, l'éclairement, qu'il soit appliqué 12 h sur 24 ou constamment, entraîne un abaissement de la teneur mycélienne en lipides après le 7ème jour de végétation. Il augmente la proportion d'acides gras libres et élève le degré moyen d'insaturation de tous les lipides : ces observations indiquent qu'il accélère le renouvellement («turn-over») de ces corps; l'élévation du degré d'insaturation correspond à une accélération générale des oxydations cellulaires (VIALA & VIDAL, 1972; VIDAL & VIALA, 1973, 1979).

L'éclairement provoque une diminution de la proportion de lipides polaires; de même, il entraîne une hausse du rapport PC/PE, ce qui est l'indice d'une modification des lipides membranaires. Une élévation du rapport PC/PE est considérée chez beaucoup de champignons comme un indice de plus grande différenciation (MANGNALL & GETZ, 1973; RAMI, 1976; CHAVANT, 1979). D'autre part, les PC jouent un rôle important dans les désaturations, équivalant à des oxydations (BEN ABDELKADER & al., 1973; KATES & al., 1979; STYMNE, 1979; CHAVANT, 1979); leur importance accrue a donc une relation avec l'élévation du degré d'insaturation des lipides.

Toutes ces modifications sont concomitantes d'une augmentation de la fertilité sexuelle du *Leptosphaeria typhae* (VIDAL, 1979, 1985) : elles sont faibles dans les mycéliums recevant un éclaircissement constant, qui demeurent pratiquement stériles, alors qu'elles sont nettes dans les cultures végétant sous photopériode qui, seules portent des périthèces dès le 7ème jour de culture. Il est très important de remarquer que ces variations sont encore amplifiées lorsque le champignon est cultivé sur baguettes et qu'il produit un nombre plus élevé d'ascocarpes. La relation entre la réorientation du métabolisme lipidique et la fertilité sexuelle du *Leptosphaeria typhae* constatée précédemment (VIDAL, 1979, 1985) est donc confirmée. Mais le champignon ne produit des périthèces que lorsque ce remaniement métabolique atteint un seuil élevé, qui n'est obtenu que sous photopériode : la présence de baguettes dans le milieu de culture à l'obscurité, ou l'éclairement constant provoquent des changements insuffisants pour déclencher le processus de reproduction sexuée à eux seuls.

BIBLIOGRAPHIE

- AMENTA J.S., 1964 - A rapid chemical method for quantification of lipids separated by thin-layer chromatography. *J. Lipid. Res.* 5 : 270.
- BEN ABDELKADER A., CHERIF A., DEMANDRE C. and MAZLIAK P., 1973 - The oleyl CoA desaturase of potato tubers. *Eur. J. Biochem.* 32 : 155-165.
- CHAVANT L., 1979 - Biosynthèse des acides gras et des phospholipides chez *Mucor mucedo* et *Aspergillus ochraceus*. Thèse, Toulouse, 125 p.
- CHEN P.S. Jr., TORIBARA T.I. and WARNER M., 1956 - Microdetermination of Phosphorus. *Analytical Chem.* 28 : 1756-1758.
- DITTMER J.C. and WELLS M.A., 1969 - Quantitative and qualitative analysis of lipids

- and lipid components. In : COLOWICK S.P. & KAPLAN N.O., *Methods in Enzymology*, New York, Academic Press, 14 : 482-530.
- FOLCH J., LEES M. and SLOANE-STANLEY G.H., 1957 - A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissue. *J. Biol. Chem.* 226 : 497-509.
- KATES M., 1972 - Techniques of lipidology. Isolation, analysis and identification of lipids. In : WORK T.S. & WORK E., *Laboratory techniques in Biochemistry and molecular biology*, North-Holland Publishing Co., 3 : 274-610.
- KATES M., WILSON A.C. and DE LA ROCHE A.I., 1979 - Lipid biosynthesis in soy-bean cell suspension cultures. In : APPELQVIST L.A. & LILJENBERG C., *Developments in Plant Biology* (Symposium Göteborg, 28-30 August 1978). London & New York, North Holland/Elsevier : 329-342 (Recent Adv. Biochem. Physiol. Pl. Lipids, 3).
- LACOSTE L., 1965 - Biologie naturelle et culturale du genre *Leptosphaeria* Cesati et de Notaris. Déterminisme de la reproduction sexuelle. Thèse, Toulouse, 234 p.
- MANGNALL D. and GETZ G.S., 1973 - Phospholipids. In : ERWIN J.A., *Lipids and biomembranes of eukaryotic microorganisms*, Academic Press : 145-195.
- MAZLIAK P., 1968 - Le métabolisme des lipides dans les plantes supérieures. Paris, Masson, 223 p.
- MORQUER R., 1931 - Recherches morphogénétiques sur le *Dactylium macrosporum*. Thèse, Paris, 391 p.
- RAMI J., 1976 - Conséquences d'une carence en biotine sur la composition lipidique du plasmalemme isolé d'un mycoparasite déficient. Thèse 3ème cycle, Toulouse, 123 p.
- RENKONEN O. and VARÖ P., 1967 - Thin-layer chromatography of Phosphatides and Glycolipids. In : MARINETTI G.V., *Lipid chromatographic analysis*, New York, Marcel Dekker Inc., T. 1 : 41-98.
- ROUSER G., KRITCHEVSKY G. and YAMAMOTO A., 1967 - Column chromatographic and associated procedures for separation and determination of phosphatides and glycolipids. In : MARINETTI G.V., *Lipid chromatographic analysis*, New York, Marcel Dekker Inc., T. 1 : 99-162.
- SKIPSKI V.P., PETERSON R.F. and BARCLAY M., 1964 - Quantitative analysis of Phospholipids by thin-layer chromatography. *Biochem J.* 90 : 374-378.
- STYMNE S., 1979 - Linoleate synthesis in cell-free preparations of developing oil seeds. In : APPELQVIST L.A. & LILJENBERG C., *Developments in Plant Biology* (Symposium Göteborg, 28-30 August 1978). London & New York, North Holland/Elsevier : 343-359 (Recent Adv. Biochem. Physiol. Pl. Lipids, 3).
- VIALA G., 1972 - Développement du *Leptosphaeria typhae*. Métabolisme intermédiaire et reproduction sexuée. Thèse, Toulouse, 137 p.
- VIALA G. et VIDAL G., 1972 - Reproduction sexuée, croissance et métabolisme intermédiaire chez *Leptosphaeria typhae*. *Physiol. Vég.* 10 : 481-491.
- VIDAL G., 1979 - Évolution de la teneur en lipides du *Leptosphaeria typhae* en fonction de sa croissance et de sa reproduction sexuée. *Canad. J. Bot.* 57 : 1701-1705.
- VIDAL G., 1985 - Évolution de la teneur en lipides de *Leptosphaeria typhae* (Auers) Karsten en fonction de sa croissance et de sa reproduction sexuée : activité de synthèse et étude des lipides neutres et polaires. *Canad. J. Bot.* (sous presse).
- VIDAL G. et VIALA G., 1973 - Influence de la date d'éclairement sur la fructification et le métabolisme du *Leptosphaeria typhae*. *Ann. Sci. Nat., Bot., 12ème série*, 14 : 53-70.
- VIDAL G. et VIALA G., 1979 - Influence de l'éclairement continu sur la croissance, la reproduction sexuée et le métabolisme du *Leptosphaeria typhae*. *Ann. Sci. Nat., Bot., 13ème série*, 1 : 283-288.
- WEETE J.D., 1980 - Lipid Biochemistry of fungi and other organisms. New York, Plenum Press, 388 p.